Münster 1935 No 145 Med DiSS

Aus dem Hygienischen Institut
der Westfäl. Wilhelms-Universität zu Münster i.W.
(Direktor: Professor Dr. K. W. Jötten)

Untersuchungen über den Einfluß von Thyroxin auf die Immunitätslage.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms Universität Münster i. Westf.

Verfaßt und vorgelegt von

Carl Friedrich Pieper
Zahnarzt aus Weisenau (Mainz)

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.
1935

Dekan und Referent: Professor Dr. K. W. Jötten.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westf.

Meinen lieben Eltern!

Den Einwirkungen der Bakterien setzt der Organismus eine Widerstandsfähigkeit entgegen, die wir allgemein mit Immunität bezeichnen. Wir verstehen darunter die Unempfänglichkeit eines Individuums gegenüber einer Infektion, an der unter gleichen Bedingungen andere Wesen derselben Art und Rasse erkranken. Früher, als die Ursachen der ansteckenden Krankheiten noch unbekannt waren, konnte man experimentell kaum untersuchen, worauf diese Widerstandsfähigkeit beruht. Durch die zufällige Entdeckung Jenners, daß durch künstlich hervorgerufene Infektion mit Kuhpockeneiter der Körper gegen die echten Pocken resistent bleibt, wurde der Grundstock einer systematischen Immunisierung gelegt, die später, auf den Entdeckungen von R. Koch und L. Pasteur fußend, die Immunitätslehre zu einem wichtigen Gebiet der medizinischen Wissenschaft erhob.

Wir unterscheiden verschiedene Arten von Immunität, wie wir auch verschiedene Möglichkeiten haben, den Organismus gegen Erreger unempfänglich zu machen. So gibt es eine natürliche oder angeborene Immunität zum Unterschied von einer erworbenen Unempfänglichkeit.

Bei der natürlichen Immunität spielen Rasse und Konstitution, Geschlecht und Lebensalter des Individuums eine große Rolle. Eine natürliche bestehende Widerstandsfähigkeit äußert sich darin, daß bestimmte Tierklassen gegen bestimmte Krankheiten immun sind. R. Koch gab schon an, daß z. B. Hausmäuse für Mäuseseptikämie empfänglich, Feldmäuse dagegen unempfänglich sind. Ferner unterscheidet man zwischen Immunität bzw. Disposition der Rasse und des Individuums. Von Bedeutung für die Empfänglichkeit ist ferner das Lebensalter. In der Jugend ist die Disposition für viele Krankheiten größer als im Alter. Dasselbe gilt in mancher Beziehung vom Kräftezustand. Kräftige Personen sind meistens weniger disponiert als Schwächliche, Kranke und Rekonvaleszenten. E. Thomas untersuchte die Beziehungen chronischer Unterernährung zur Infektion und stellte eine herabgesetzte Immunität fest. Tierversuche haben gezeigt, daß auch Überanstrengung (Tretmühle), Hunger, Stallverhältnisse, das Einatmen schädlicher Gasarten sowie übermäßige Abkühlung (Entfernung der Haare bei stark behaarten Tieren) die

Disposition wesentlich erhöhen können. Zu erwähnen sei hier die Bedeutung der lokalen Abkühlung für Schleimhautinfektionen.

Dieser natürlichen Immunität steht nun die erworbene Immunität gegenüber, die wir nach Paul Ehrlich in eine aktive und passive Immunität unterteilen. Durch eine nicht direkt zum Tode führende Infektion tritt gesetzmäßig während des Verlaufs der Krankheit eine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit auf. Der Organismus macht eine Reaktion durch, die der Ausdruck einer erhöhten Zelltätigkeit ist, ausgelöst durch Reize der eingedrungenen Erreger. Es werden hierbei Schutzstoffe — Antikörper, Bakteriolysine, Opsonine, Alexine — gebildet. Diese Antikörper sind spezifisch, d. h. nur gegen die Bakterienart wirksam, unter deren Einfluß sie entstanden sind. Im Gegensatz zur natürlichen Immunität spricht man hier also von einer spezifisch erworbenen Immunität. Sie läßt sich künstlich herbeiführen durch Injektion von in ihrer Virulenz abgeschwächten oder abgetöteten Bakterienkulturen. Als klassisches Beispiel ist hierfür die Schutzpockenimpfung zu nennen, wie sie zuerst von Jenner 1796 durchgeführt wurde.

Injiziert man ein an Schutzstoffen reiches Serum auf andere Tiere, so wird ein gewisser Grad von Immunität mit übertragen. Der Organismus ist also auch mit Schutzstoffen gegen den Erreger versehen, die aber nicht durch eigene Lebenstätigkeit erzeugt wurden. In diesem Falle sprechen wir von passiver Immunisierung. Praktische Bedeutung gewann diese Methode zuerst durch die Herstellung von Diphtherie- und Tetanusheilserum von Behring.

Verschiedene Mittel gibt es, um den Körper zur Bildung von Abwehrstoffen anzuregen.

Über den Einfluß des Radiums auf die Produktion von Antikörpern im Organismus hat A. Schütze Untersuchungen angestellt. Er fand eine erhöhte Bildung von Abwehrstoffen im Blut bei Radiumbestrahlung.

Die Wirkungsweise der Röntgenstrahlen in bezug auf Antigene gibt E. Fränkel an. Während Einzelgaben kaum eine Wirkung ausübten, kam bei vermehrter Verabreichung von größten Dosen (bis zu 12½ Erythemdosen) eine bedeutende Abschwächung des hämolytischen Komplements zustande.

Ebenfalls Einfluß auf die immunisatorischen Kräfte haben abnorme Stoffe im Gewebe und Blut. Zucker und Gifte (Alkohol) können die Disposition wesentlich erhöhen, wie überhaupt chemisch-pharmazeutische Präparate eine Wirkung auf Antikörperbildung ausüben können. Strubell bewies an Hand zweijähriger Versuche an Menschen, daß bei jeglicher Applikationsweise des Jods mit gangbaren Präparaten verschiedenster Natur beträchtliche Schwankun-

gen der opsonischen Immunität besonders gegen Staphylokokken, aber auch gegen Tbc.-Bazillen hervorgerufen werden können. Hisanaga konnte feststellen, daß Jodkali und Chinin einen Einfluß auf die Phagozytosetätigkeit haben. Bei Anwendung einer schwachen Lösung wird die Phagozytose beschleunigt, bei Anwendung einer starken Lösung dagegen gehemmt.

Um die tötende Wirksamkeit des Blutes mit künstlichen Mitteln zu steigern, sind viele Präparate hergestellt worden. So schuf Much auf Grund eingehender Versuche das unspezifische Heil- und Vorbeugemittel Omnadin, ein Heilimpfstoff, der aus Eiweißkörpern, animalischen Fetten und Lipoidstoffen der Galle besteht und aus apathogenen Bakterien gewonnen wird. R. Bieling und L. Oelrichs veröffentlichten die Ergebnisse ihrer tierexperimentellen Untersuchungen mit Omnadin, wobei die mit dem Präparat gespritzten Tiere eine durch Impfung mit pathogenen Keimen hervorgerufene Krankheit nicht so heftig zum Ausbruch kommen ließen wie die Tiere ohne Omnadinbehandlung. E. Gärtner stellte die Steigerung der bakteriziden Antikörper durch Omnadin fest.

Eine große Bedeutung für die Abwehrkraft der Zelle gegen Infektion haben auch die Vitamine. Die klinische Erfahrung lehrt, daß bei Avitaminosen, die durch Mangel an Vitamin A und Vitamin D hervorgerufen sind, die antibakterielle Resistenz des Organismus herabgesetzt ist. Das spricht für die oft beobachteten therapeutischen Erfolge mit Vitaminzufuhr bei Infektionskrankheiten. Experimentell konnte festgestellt werden, daß vitaminarm ernährte Tiere leichter als normal ernährte einer Spontaninfektion erlagen. Hierbei handelte es sich meist um Erreger, die beim gesunden Tier als harmlose Parasiten leben und nur dem vitaminfrei ernährten, in seiner Widerstandskraft geschwächten Organismus schädlich werden. Mellanby und Green gingen im Versuch fast sämtliche Vitamin-A-frei ernährten Ratten zugrunde. Turner, Andersen und Blodget entdeckten in 85 % aller Fälle von experimenteller Xerophthalmie eitrige Entzündungen des Mittelohres und der Nasennebenhöhlen.

Ob eine überreiche Nahrung an Vitaminen den Körper Krankheitserregern gegenüber widerstandsfähiger macht, haben Pfannenstiel und Scharlau untersucht. Sie konnten bei frischer und chronischer Kaninchentuberkulose nur in einigen Fällen Heilerfolge erzielen. Die chronisch erkrankten Tiere wurden viel stärker beeinflußt als die frisch infizierten. Durch Vigantolgaben konnte Pfannenstiel die Bakterizidie beim gesunden Tier steigern.

Die Möglichkeit einer Beeinflussung der Immunitätslage, sei es auf natürlicher oder künstlicher Basis, ist also eine recht viel-

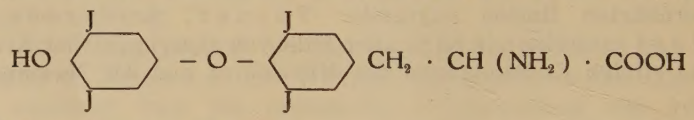
seitige. In dieser Arbeit soll nun untersucht werden, ob und in welchem Maße die Hormone zur Immunität beitragen.

Hormone oder Inkrete sind die Stoffe innersekretorischer Organe, welche in das Blut abgegeben und auf diesem Wege an die Zellen herangeführt werden. Ihre Wirkungen können entweder fördernd oder hemmend sein. Sie können die morphologische Ausbildung eines Organs oder seine Tätigkeit in förderndem oder hemmendem Sinne beeinflussen: man spricht dann von morphogenetischer und funktioneller Wirkung. Daß die innersekretorischen Organe eine Wichtigkeit für Leben und Allgemeinzustand haben, geht aus der schweren Schädigung des Organismus nach Exstirpation oder Erkrankung der Drüsen hervor. Als Beweis gilt ferner die Möglichkeit des Ersatzes durch:

1. Transplantation des Organs;
2. Einspritzung eines Organextraktes subkutan oder intravenös oder Verfütterung des Organs oder eines daraus hergestellten Präparates.
3. Durch Einspritzung des in reiner Form hergestellten Stoffes, der der innersekretorischen Wirkung zugrundeliegt.

Ob durch Hormone eine Beeinflussung der Immunitätslage stattfindet, soll in dieser Arbeit unter Verwendung des Hormonpräparates Thyroxin-Scherin g untersucht werden.

Thyroxin ist das synthetisch dargestellte reine Hormon der Schilddrüse. Dem amerikanischen Forscher Kendall gelang es zuerst, die Substanz in kristallinischer Form chemisch rein darzustellen. Nach Haringto n und Barger, denen erst die Klarlegung der chemischen Konstitution gelang, ist es der Dijodoxyphenyläther des Dijodtyrosins = $C_{15}H_{11}O_4NJ_4$ von der Konstitution:



Der Jodgehalt ist ca. 65,3 %.

Gaben von Thyroxin bei gesunden Menschen und Tieren rufen die Erscheinungen der Hyperthyreoidie hervor. Dabei handelt es sich besonders um Steigerung des Stoffwechsels, Erhöhung des Grundumsatzes und als Folge um eine verstärkte Einschmelzung der Gewebe.

Daß die Funktion der Schilddrüse immunisatorische Kräfte erzeugt, geht aus den Darlegungen von Sajons hervor. Auf Grund zahlreicher Studien fand er, daß die Drüse bei ansteckenden Krankheiten ausgesprochene Mehrarbeit zeigt. Schilddrüsenberaubte Tiere

unterliegen leichter einer Infektion. Die Schilddrüse entfaltet ihre Schutzrolle teilweise durch Reizung der Nebennieren und unter deren Vermittlung sowie dem Einfluß der Hormone. Als aktiver Faktor der Immunisierung nimmt sie indirekt daran teil durch Erhöhung der Nebennierenfunktion und damit der Umsetzungsprozesse, wodurch eine erhöhte Bildung von Schutzstoffen im Blute erfolgt. Die Schilddrüse ist aber nur der Aktivator für die alexinbildenden Organe und nicht ein solches selbst. Ihre und die Epithelkörperchensekretion dient zur Sensibilisierung der phorsphorbeladenen Zellen. Diese Sekretion und das Opsonin sind, wie Sajons anführt, dieselbe Substanz; beide Male findet sich Jod, Nukleoproteid, Globulin und Zerstörung bei 60—65°. Darum handele es sich um plasmatische Produkte der roten Blutzellen. Durch Schilddrüsenepithelkörperchenpräparate kann daher die opsonische Kraft des Blutes gesteigert werden, wobei die Epithelkörperchen die Hauptrolle spielen. In der Schilddrüse sind thermolabile Substanzen, welche die Phagozytosetätigkeit der Leukozyten steigern. Übermäßige Dosen von Schilddrüsenextrakt setzen die Widerstandsfähigkeit gegen Infektion herab, geringe Dosen steigern sie.

Um die Änderung der Immunitätslage im behandelten Organismus festzustellen, kennt man verschiedene Methoden. Neben der Bestimmung der Bakterizidie ist die Kontrolle der Phagozytose besonders wertvoll. Die Untersuchung der opsonischen Kraft des Blutes als Gradmesser der Immunität, wie sie von Wright angegeben ist, hat bei den einzelnen Autoren verschiedene Meinungen aufkommen lassen.

Eine große Bedeutung für die Feststellung von Änderungen in der Immunitätslage hat auch die Beobachtung der Leukozyten. Die Bedeutung der Leukozyten für die Vernichtung von Erregern beruht in der Fähigkeit, durch ihre amöboide Beweglichkeit kleine Fremdkörperchen zu umfassen und aufzunehmen. Von Metschnikoff wurde dieser Vorgang als Freßtätigkeit oder Phagozytose bezeichnet. Sie wird fast immer von Blutserumstoffen begünstigt, die als Opsonine bezeichnet werden. Diese wirken auf die Bakterien ein und bilden sie so um, daß sie für die Leukozyten aufnahmefähig sind. Wright spricht hierbei direkt von einer opsonischen Phagozytose. Üben dagegen die Opsonine aus irgendeinem Grunde keinen Einfluß auf die Bakterien aus und werden sie trotzdem von den Leukozyten gefressen, so handelt es sich um Spontanphagozytose.

Während Wright die Opsonine weder mit dem Komplement noch mit dem Ambozeptor identifiziert, vertreten andere Autoren, u. a. Reiter, die Ansicht, daß sich die opsonische Wirkung normaler Seren aus ihrem Komplementgehalt erklärt. Durch Erhitzen

des Serums geht mit dem Komplementverlust der Opsoninverlust parallel. Ebenso findet analog Opsoninbindung und Komplementbindung statt.

Über den Bau der Opsonine geben uns Bürgers und Meisner an, daß es sich dabei um eine Zusammensetzung analog Ambozeptor und Komplement handelt, daß die Opsonine also komplexer Natur sind.

In letzter Zeit neigt man sogar zu der Annahme, daß das Opsonin eine chemische Substanz ist, deren Bildung als eine Funktion des retikulo-endothelialen Gewebes anzusehen ist (Elvidge).

Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung der Immunitätslage ist dann auch der Feststellung des Komplementgehaltes des Blutes beizumessen. Wenn auch heute die Natur des Komplementes noch nicht einwandfrei erwiesen, so haben doch eine Reihe von Untersuchungen ergeben, daß unter bestimmten Einflüssen oder bei verschiedenen Krankheiten mit Änderungen des Komplementgehaltes zu rechnen ist.

In dieser Arbeit ist nun untersucht worden, wie sich die Immunitätslage unter dem Einfluß von Thyroxin verändert.

Zur Beurteilung der veränderten Immunität wurden regelmäßige Bestimmungen des opsonischen Index, des Komplementgehaltes und eine Zählung der Leukozyten vorgenommen; ferner wurde bei den Tieren genau beobachtet, wie sich Gewicht, Herztätigkeit und allgemeines Verhalten änderten.

Die Versuche wurden angestellt an Kaninchen. Eingestellt waren außer zwei Kontrolltieren zunächst 2 Tiere, die täglich mit 0,15 g Thyroxin gefüttert wurden. Später, als keine nennenswerten Beobachtungen gemacht werden konnten, wurde die Dosis auf 0,3 g bzw. 0,25 g erhöht. Ein drittes Versuchstier wurde hinzugenommen, nachdem 1 Kaninchen eingegangen war. Das Präparat Thyroxin wurde den Tieren per os verabreicht in der Art, daß es, fein zermörsert unter das Futter gemengt, nüchtern vorgesetzt wurde.

Die beigefügten Zeichnungen geben die Untersuchungsergebnisse graphisch wieder.

Im Anfang war die Menge von 0,15 g Thyroxin bei Ka. 1929 und Ka. 1931 ohne Einfluß auf eine Veränderung der Kurven, weshalb die Dosis verdoppelt wurde. Die Veränderung des Gewichtes zeigt uns am besten die Darstellung bei Ka. 1931. Sofort bei Beginn der Fütterung tritt ein Sinken des Gewichtes auf, welches sich dann mit einer Remission vor der Erhöhung der täglichen Menge während der Zeit der Unterbrechung auf gleicher Höhe hält, um bei wiedereinsetzendem Versuch rapide abzufallen. Bei Ka. 1929 bemerkt man im Anfang keine rein absteigende Tendenz der Gewichtskurve, son-

dern im Gegenteil eine Erhöhung des Gewichtes. Dann beginnt aber nach längerer Behandlung eine starke Gewichtsabnahme, die beim Aussetzen der Fütterung sofort in ein Ansteigen über den früheren Höchstwert umschlägt. Nochmalige Behandlung mit 0,25 g Thyroxin pro die läßt das Gewicht wieder abnehmen. Bei Ka. 1937 haben wir nach einigen Schwankungen ebenfalls das Bild einer absteigenden Gewichtskurve.

Während der ersten Zeit des Versuches machte sich eine zunehmende Reizbarkeit der Tiere bemerkbar. Die sonst ruhigen Kaninchen wurden scheu, störrisch und versuchten, sich durch Beißen jeden Eingriff abzuwehren. Mit den zunehmenden Gewichtsverlusten wurde dann die allgemeine Schwächung bei den Tieren so stark, daß sich diese tagelang nicht erhoben und das Futter verweigerten, weshalb mit der Fütterung unterbrochen wurde.

Die Menge des Thyroxins übt auch, wie bekannt, einen starken Einfluß auf die Herztätigkeit aus. Verfütterung von 0,15 g hat beim Ka. 1929 mit einer geringen Schwankung eine Verlangsamung des Pulses zur Folge; bei Verdoppelung der Dosis tritt aber sofort eine erhöhte Herztätigkeit ein. Die Kurve steigt über den früheren Höchstwert hinaus. Beim Aussetzen der Fütterung fallend, beginnt sofort nach nochmaligen Gaben in der Menge von 0,25 g ein Ansteigen. Die Herztätigkeit beim Tier 1931 schwankt auch zwischen begrenzten Werten bei Fütterung mit kleinsten Dosen. Bei Verdoppelung der Menge steigt dann die Kurve gleichmäßig an, um nicht einmal beim Aussetzen der Fütterung zu fallen. Die Höhe des Pulses beim Ka. 1937 nimmt bei vermehrten Thyroxingaben ebenfalls zu. Die Kurve zeigt aber einmal eine absteigende, doch dann wieder ansteigende Richtung.

Für die Laboratoriumstechnik bei meinen Versuchen zur Bestimmung des opsonischen Index benutzte ich Kapillarpipetten und Ausstreicher zum Anfertigen der Präparate. Der Ausstreicher, wie er von W r i g h t angegeben ist, wird aus einem guten Objektträger so gebrochen, daß die Bruchfläche eine leichte Konkavität aufweist. Dadurch kommen die charakteristischen Ausstriche mit halbmondförmigen Enden zustande, auf deren Rande man die Leukozyten angehäuft vorfindet. Zum Versuch gebrauchte ich:

1. das zu untersuchende Serum der Kaninchen, die mit Thyroxin vorbehandelt waren;
2. das zur Kontrolle dienende Serum eines gesunden Tieres;
3. eine Emulsion gewaschener Blutkörperchen von einem gesunden Menschen;
4. eine Bakterienaufschwemmung, in diesem Falle von Bact. coli, gegen die die Phagozytose fördernde Eigenschaft des zu untersuchenden Serums festgestellt werden sollte.

Das Kaninchenserum erhielt ich durch Blutentnahme aus der Ohrrandvene, um die Tiere möglichst zu schonen. Die Blutkörperchenemulsion wurde folgendermaßen hergestellt: Von einer gesunden Person werden 3—4 Tropfen Blut in einem mit einer 1,5prozentigen Natriumcitricum-Lösung dreiviertel gefüllten kleinen Reagenzröhrchen aufgefangen. Durch vorsichtiges Kippen des Röhrchens, wobei jedes Schütteln wegen der Empfindlichkeit der Leukozyten zu unterlassen ist, wird Blut und Natriumcitratlösung sorgfältig gemischt. Nach Zentrifugieren von ca. 5 Minuten wird die über den Blutkörperchen stehende Flüssigkeit vorsichtig, ohne Beschädigung des aufgelagerten weißen Leukozytenschleiers soweit abpipettiert, daß die überstehende Menge dem Blutkörperchenvolumen entspricht. Jede Trübung muß vermieden werden. Nach Auffüllen mit physiologischer Kochsalzlösung bis zum früheren Volumen wird wieder gemischt, zentrifugiert und abgehoben, bis eine gleiche Menge klarer Flüssigkeit übersteht. Nach vorsichtigem Vermischen hat man die fertige Aufschwemmung.

Für die Bakterienemulsion wurden Bact. coli benutzt, die nicht über 12 Stunden alt waren. Als Aufschwemmungsflüssigkeit diente Kochsalzlösung. Bei der Herstellung der Emulsion wird eine Öse voll Bakterien an der Wandung eines Spitzglases gut verrieben, damit alle Klumpen sich möglichst fein verteilen. Bei leichtem Zentrifugieren setzt sich ein Teil der Bakterien ab. Die überstehende Flüssigkeit hat nun die richtige Konzentration und wird in ein Reagenzgläschen umgefüllt.

Technik des Versuches.

Etwa 1½ cm vom Ende der Kapillarpipette wird mit einem Fettstift eine Marke gemacht. Der Abschluß des dicken Handstückes geschieht durch ein dicht schließendes Gummihütchen. Die Objektträger, die benutzt werden, läßt man auf einer Glas- oder Marmorplatte rotieren, um die konvexe Fläche festzustellen. Auf dieser Seite wird der Ausstrich gemacht.

Der Phagozytoseversuch wird in einem Opsonizer vorgenommen. Reiter hat einen nach Wright modifizierten Thermostaten geschaffen, der auf dem Prinzip der Thomosapparate aufgebaut ist. Die Temperatur wird auf 37° gebracht und bleibt für die Dauer des Versuches konstant. In die kleinen Öffnungen des Deckels werden die Pipetten eingehängt.

Der Versuch beginnt damit, daß man bis zur Marke Blutkörperchenemulsion in die Pipette aufsaugt. Dann wird eine kleine Luftblase gesetzt und genau so mit Bakterienemulsion und Serum verfahren. Die Genauigkeit des Versuches hängt von der exakten Gleich-

heit der aufgezogenen Mengen und der Luftblasen ab. Nun werden die Pipetten mit den 3 verschiedenen Flüssigkeiten in eine etwas weitere, unten zugeschmolzene Pipette gebracht und der Inhalt durch dreimaliges Ausspritzen und Aufsaugen innig miteinander vermengt. Das ganze Gemisch läßt man nun genau 10 Minuten im Opsonizer bei 37° aufeinander einwirken. Nach dieser Zeit wird alles wieder herausgenommen, die Mischung noch einmal gründlich aufgesaugt, ausgespritzt und wieder aufgesaugt und auf einige Objektträger verteilt. Letztere werden mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand gefaßt und der Ausbreiter, ebenso mit der rechten Hand gehalten, in einem Winkel von 45° von links nach rechts unter gleichmäßigem Druck über den Objektträger gezogen. Der Tropfen ist nun fein verteilt und zeigt einen nach rechts konkaven Bogen. Nur solche Ausstriche sind verwendbar, bei denen der Bogen keine zu langen Ausläufer und keinen gezackten Rand aufweist.

Nun läßt man die Präparate lufttrocken werden, fixiert sie einige Minuten mit Sublimatlösung und färbt sie. Am besten bewährte sich Karbolthionin 4 Minuten in folgender Lösung:

Karbolsäure 1 %	100,0
Thionin	0,25

Nach Abspülen und Trocknen zwischen Fließpapier beginnt die mikroskopische Ausmusterung unter Ölimmersion.

Für die Auszählung sind von Reiter folgende Grundregeln angegeben worden:

1. die zu zählenden Leukozyten sollen sämtlich am Ende des Ausstriches auf dem Bogen liegen;
2. von jedem Gemisch werden mindestens 100 polynukeäre Leukozyten gezählt, ohne Rücksicht darauf, ob sie gefressen haben oder nicht;
3. nur Leukozyten, die intakt und gut gefärbt sind, werden berücksichtigt;
4. als phagozytiert gelten nur die Bakterien, die vollkommen im Leukozyten eingeschlossen sind;
5. Leukozyten, die abnorm viel Bakterien gefressen haben, werden nicht mitgezählt;
6. ebenso verfährt man mit allen Leukozyten, bei denen man im Zweifel ist.

Sind bei der Durchmusterung des Präparates mit dem zu untersuchenden Serum auf 100 Leukozyten z. B. 80 phagozytierte Bakterien gezählt, so ergibt sich der phagozytische Index, indem man 80 durch 100 dividiert. 1 Leukozyt hat im Durchschnitt 0,8 Bact. coli gefressen. Hat man bei derselben Versuchsserie in dem Kontrollpräparat 72 gefressene Bakterien gefunden, so wäre für dieses Serum

der phagozytische Index 0,72. Den opsonischen Index erhält man, indem man den phagozytischen Index des zu untersuchenden Serums durch den phagozytischen Index des Kontrollserums dividiert. Für dieses Beispiel ergäbe sich demnach:

$$\frac{\text{phagozyt. Index v. vorbehand. Tier}}{\text{phagozyt. Index v. Kontrolltier}} = \frac{0.80}{0,72} = 1,11$$

Der opsonische Index für das Versuchstier ist also 1,11.

In folgender Tabelle sind die erhaltenen Resultate der Opsoninbestimmungen zusammengestellt:

Datum	Ka. 1929	Ka. 1931	Ka. 1937	Menge des Thyroxins in g
2. August	0,88	0 79		
6.	1.16	0,85		
13.	0,98	1,05		0,15
16.	0,76	0,94		
20.	0,87	0,89		
23.	0,85	1,10		
30.	0,86	0,96		
20. September	0,96	0,71		
26.	0,68	0,84		0,3
6. Oktober	1,08	0,92		
13.	0,98	1,15		
17.	0,96	1,21		
22.	1,01	1,17		
26.	1,10	eingegangen		
6. November	0.90		0,78	
10.	0,91		0,98	
16,	1,08		1,09	
21.	0,96		1.04	0,25
25.	1,11		1,00	
29.	1,13		1,11	

Ein übersichtlicheres Bild vermittelt uns die graphische Darstellung dieser Werte in den beigefügten Zeichnungen.

Bei Ka. 1929 zeigt die Kurve nach einmaliger Remission eine stetig ansteigende Tendenz, die beim Aussetzen der Fütterung sofort sinkt. Bei Beginn der neuen Versuchsperiode steigt dann die Kurve wieder an, um unter leichten Schwankungen den Wert 1,1 zu erreichen. Bei Ka. 1931 ist die anfängliche Schwankung noch deutlicher. Aber auch hier erkennt man nach dem Sinken des opsonischen Index während der Unterbrechung der Thyroxingaben eine steigende Kurve beim Wiederbeginn der Behandlung. Die Opsoninkurve bei Ka. 1937 ist fast ohne nennenswerte Schwankungen. Auch hier Ansteigen der Kurve vom Einsetzen der Fütterung an.

Opsoninbestimmungen wurden bei den Kontrolltieren Ka. 1783 und Ka. 1782 nicht durchgeführt, da ja der opsonische Index eine Verhältniszahl vom phagozytischen Index eines vorbehandelten Tieres zum Kontrolltier darstellt.

Zur Bestimmung der Anzahl der Leukozyten benutzte ich die Zählkammer nach B ü r k e r. Verfolgt man ihre zahlenmäßige Veränderung in den einzelnen Zeichnungen, so ist bei Ka. 1929 ein starkes Schwanken der Kurve festzustellen. Nach Einsetzen der Fütterung ist zwar eine Verminderung in der Anzahl der Leukozyten zu verzeichnen, es sind aber zwischendurch und auffallenderweise nur bei Zufuhr von kleinen Mengen (0,15 g) höhere Zahlen gefunden worden. Ihre Anzahl nimmt dann stetig ab, um beim Aussetzen der Fütterung wieder anzusteigen. Bei der letzten Fütterungsperiode mit 0,25 g Thyroxin fällt die Kurve erst, steigt dann jedoch wieder an, erreicht aber nicht den Stand wie zuvor. Bei der entsprechenden Kurve von Ka. 1931 haben wir ein noch deutlicheres Verhalten der Leukozyten vor uns. Auch hier eine abfallende Kurve, die nur bei der Fütterung mit 0,15 g Thyroxin einige Remissionen aufweist. Bei der Behandlung mit 0,3 g Thyroxin nimmt sie jedoch eine gleichmäßig steigende Tendenz an. Beim dritten Versuchstier Ka. 1937 geht die Anzahl der Leukozyten sofort nach der Wirkung des Präparates zurück und vermindert sich mit einer kleinen Schwankung ziemlich gleichmäßig. Bei den Kontrolltieren Ka. 1783 u. Ka. 1782 bleibt die Anzahl der Leukozyten für die Dauer des Versuches konstant.

Zum Schluß führe ich die Resultate der Bestimmung des hämolytischen Komplements an. Wie bereits vorher erwähnt, habe ich außer der Untersuchung der opsonischen Kraft des Blutes auch geprüft, ob sich durch die Thyroxingaben eine Änderung des Komplementgehaltes bemerkbar machte. Die Versuchsanordnung war wie folgt:

In eine Reihe von 10 Röhrchen gab ich fallende Serummengen von 0,1 ccm—0,01 ccm, sowie in 9 Röhrchen eine $^1/_{10}$ Serumverdünnung von 0,09—0,01 fallend und füllte die Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung auf 0,1 ccm auf. Außerdem kam in jedes Reagenzgläschen 0,1 ccm einer 3%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung und 0,1 ccm eines 1:600 verdünnten Ambozeptors. Darauf kamen die Gestelle 20 Minuten in ein Wasserbad von 37° und wurden weitere 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Nun wurde abgelesen. In der Tabelle sind die Ergebnisse wiedergegeben. Dabei bedeutet:

4 = vollständige Hämolyse,
3 = fast vollständiges Auflösen der roten Blutkörperchen,

2 = teilweises Auflösen der roten Blutkörperchen,
1 = kaum ein Auflösen der roten Blutkörperchen,
0 = Ausbleiben der Hämolyse.

Die Resultate sind bei allen drei Kaninchenseren gleich. Bei Ka. 1929 ist bei 0,15 g Thyroxin pro die kaum eine nennenswerte Änderung im Komplementgehalt eingetreten. Kurz vor der Erhöhung der täglichen Gabe ist sogar eine Vermehrung des Komplements, also ein Ansteigen der Hämolyse zu verzeichnen. Der Komplementgehalt sinkt dann aber sofort bei Verdoppelung der Dosis. Beim Aussetzen der Fütterung ist wieder die gleiche Menge Komplement vorhanden, wie vor dem Versuch als normaler Wert festgestellt worden ist. Bei einer nochmaligen Fütterungsperiode wurde die Hämolyse geringer, das Komplement nahm also wieder ab. Während schon 0,02 ccm Serum vom unbehandelten Kaninchen ausreichten, um eine Hämolyse herbeizuführen, waren 0,07 ccm Serum vom gefütterten Tier nötig, um die genügende Menge Komplement für eine vollständige Hämolyse zu liefern. Bei Ka. 1931 zeigte sich im Anfang der Behandlung mit 0,15 g Thyroxin keine nennenswerte Änderung der Hämolyse. Sofort nach Verabreichung der doppelten Menge sinkt der Komplementgehalt stark, und 0,1 ccm Serum reichen erst aus, um die roten Hammelblutkörperchen aufzulösen. Auch die Ergebnisse der Komplementbestimmung bei Ka. 1937 zeigen ein fast gleichmäßiges Sinken des Komplementgehaltes. Im Gegensatz hierzu zeigten sich bei den Kontrolltieren Ka. 1783 und Ka. 1782 keine Schwankungen.

Betrachten wir nun das Ergebnis unserer Untersuchungen über die Immunitätslage für die drei Versuchstiere zusammen, so läßt sich sagen, daß grundsätzlich die Beobachtungen bei allen mit Thyroxin vorbehandelten Kaninchen gleich sind. Die Gewichtskurven zeigen in jedem Falle eine gleichmäßig absteigende Tendenz. Vergleichend zwischen der Herztätigkeit der einzelnen Tiere stellt man fest, daß die entsprechende Kurve bei Ka. 1937 nicht das charakteristische Ansteigen durch Thyroxinfütterung wie bei den beiden anderen Tieren aufweist. Gleichmäßig bei allen Tieren schwankten die Ergebnisse der Leukozytenzählung, wenn auch im Verlauf des Versuches eine Abnahme vorhanden ist. Der opsonische Index ist bei Ka. 1929 größeren Schwankungen unterworfen als z. B. bei Ka. 1931. Bei größeren Dosen Thyroxin nahm der Komplementgehalt des Blutes bei allen Tieren gleichmäßig ab. Am deutlichsten macht sich dieser Rückgang bei Ka. 1931 bemerkbar.

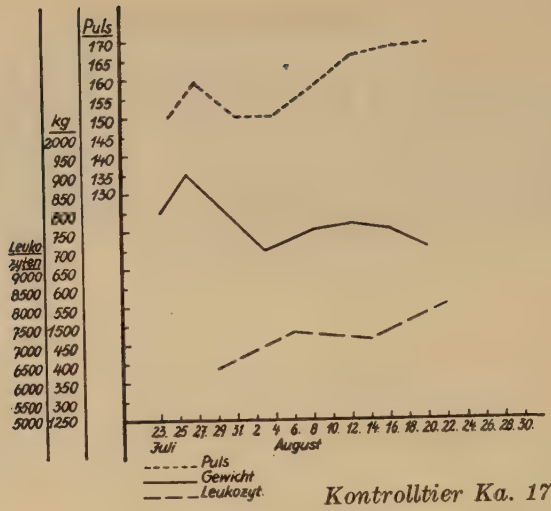
Bei den Kontrolltieren Ka. 1783 u. Ka. 1782 können wir keine derartigen Erscheinungen feststellen. Die Kurven der Leukozyten, des Pulses und des Gewichtes geben in der Gesamtheit kein veränderliches Bild und weisen nur geringe Schwankungen auf.

Komplementbestimmung.

Serum	0,1	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0
physiol. NaCl	—	0,01	0,02	0,03	0 04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0
Ambozept.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0
Hammelb.-Körperch.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0
1. Ka. 1929																
31. Juli	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	2	1	1	
7. August	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	
16.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	1	
23.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	
30.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	1	1	1	
17. Oktober	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	1	1	1	
26.	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	1	1	1	0	0	
6. November	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	2	2	1	
16,	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	2	1	1	
21.	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	2	2	2	1	
29.	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	1	1	1	0	
2. Ka. 1931																
31. Juli	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	2	2	1	
7. August	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	
16.	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	1	
23.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	1	
30.	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	2	
17. Okt.	4	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1	1	
3. Ka. 1937																
6. Nov.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	
16.	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	2	1	
21.	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	
29.	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	
Kontrolltier **Ka 1783**																
25 Juli	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	1	1	
18. Aug.	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	1	1	
21 Sept.	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	2	
Kontrolltier **Ka. 1782**																
25. Juli	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	2	2	2	
18. Aug.	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	1	1	
21. Sept.	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	1	

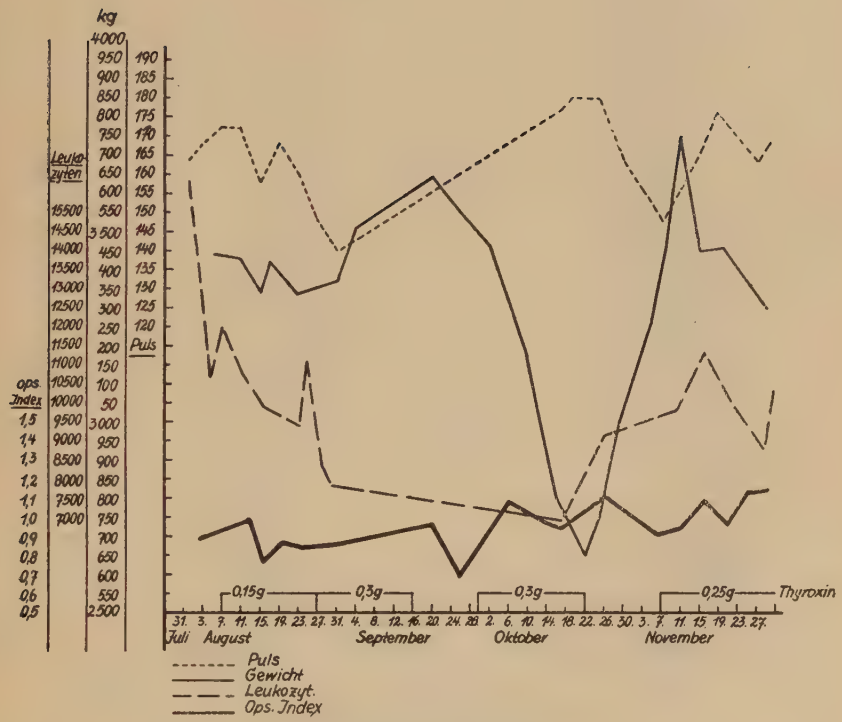
Zusammenfassung.

Durch Verfütterung von Thyroxin-Schering bei Kaninchen wurde eine Veränderung der Immunitätslage festgestellt. Während 0,15 g fast unwirksam blieben, trat bei 0,3 g eine Erhöhung des opsonischen Indexes auf. Die Anzahl der Leukozyten ging zurück, der Komplementgehalt des Blutes nahm ab. Die Kontrolle der Tiere auf Körperzustand und Herztätigkeit ließ ein Sinken des Gewichtes und ein Ansteigen des Pulses erkennen.

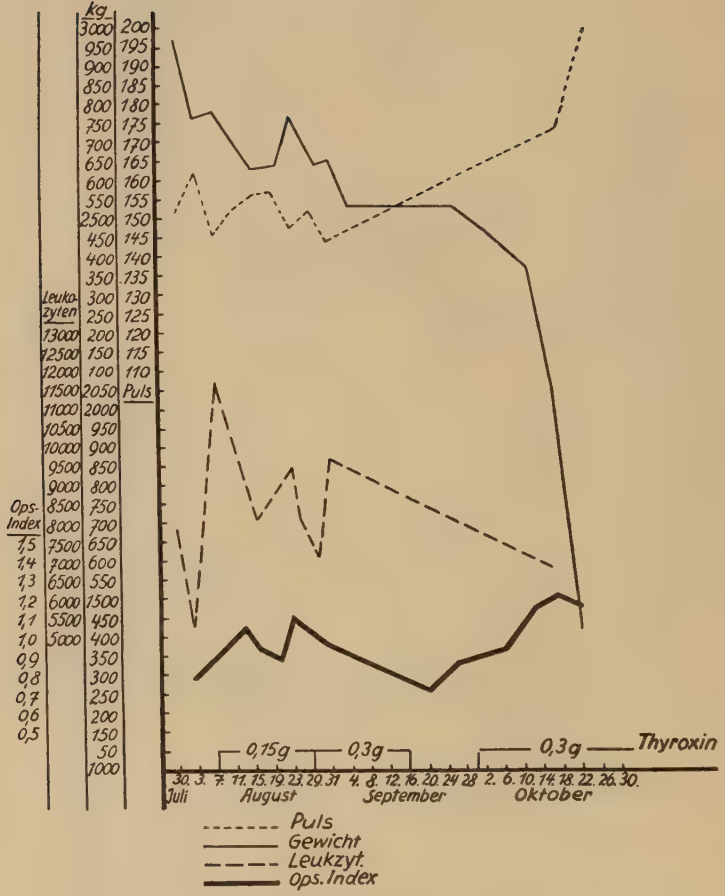


Kontrolltier Ka. 1782.

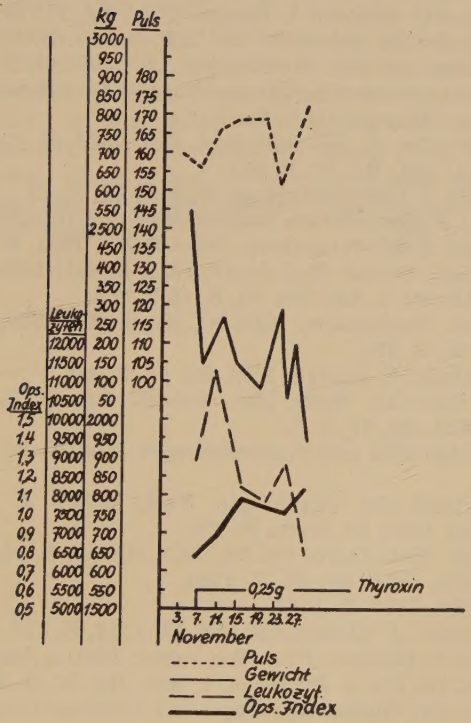
Kontrolltier Ka. 1783.



Versuchstier Ka. 1929.



Versuchstier Ka. 1931.



Versuchstier Ka. 1937.

Literaturverzeichnis.

Bieling und Oelrichs: Dtsch. med. Wochenschr. 1934. Nr. 7, S. 242.
Bürgers, Th. J.: Zeitschr. f. Immun. Orig. Bd. 5. 1910, S. 638.
Bürgers und Meisner: Zeitschr. f. Immun. Orig. Bd. 11, 1911, S. 528.
Elvidge, A. R.: Journ. of Immun. v. 24. 1933, S. 31—64.
Fränkel, Ernst: Berliner klin. Wochenschr. 1912. Nr. 43, S. 2030.
Gärtner, E.: Tierexperimentelle Untersuchungen über Behandlung mit Omnadin. Diss. Münster 1935. S. 12.
Hisanaga, T.: Zeitschr. d. jap. mikrobiol. Ges. 1920, S. 13. zit. im Zbl. f. Bakteriol. I. Abt. Bd. 72, S. 231.
Jötten, K. W.: Zbl. f. Gewerbehygiene. Beiheft 15. S. 23.
Kolle und Hetsch: Experimentelle Bakteriologie und Infektionskrankheiten. Verl. Urban & Schwarzenberg, Wien/Berlin 1911, S. 89.
Mellanby and Green: British Med. Journ. 1928, S. 691; 1929, S. 984. Zit. im Zbl. f. Bakteriol. I. Abt. Bd. 95, S. 98 u. 363.
Much: Dtsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 26, S. 708. 1920, Nr. 18, S. 483. 1920, Nr. 29, S. 791.
Pfannenstiel: Zeitschr. f. Immun. 1928. Bd. 56, S. 388.
Pfannenstiel u. Scharlau: Beitr. klin. Tuberk. Bd. 73, S. 3. Zeitschr. f. experim. Med. Bd. 71, S. 3.
Reiter: Vaccinediagnostik und Vaccinetherapie. Verl. Enke, Stuttgart 1913, S. 16.
Rosemann: Lehrbuch der Physiologie. Verl. Urban & Schwarzenberg, Wien/Berlin 1929, 19. Aufl., S. 405.
Sajons: New York Med. Journ. vol. 94. 1911. Nr. 20, S. 961.
Schütze: Med. Klin. 1911. Nr. 45, S. 1729.
Strubell: Med. Klin. 1912. S. 1430.
Thomas, E.: Zeitschr. f. Kinderheilk. Bd. 11. 1914, S. 317.
Turner, Andersen u. Blodget: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. Vol. 26. 1928. S. 233. Zit. im Zbl. f. Bakteriol. I. Abt. Bd. 95, S. 22.
Wright: Technik von Gummisaugkappe und Glaskapillare. Verl. Fischer, Jena 1914, S. 139.
Wulff: Zeitschr. f. Immun. Bd. 19. 1913, S. 549.

Zum Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. K. W. Jötten für die gütige Überlassung des Themas sowie für alle Mühewaltung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Ebenso möchte ich Herrn Dr. med. habil. H. Reploh für die liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung meiner Arbeit danken.

Lebenslauf.

Am 14. Juni 1912 wurde ich als Sohn des Reichsbahnoberinspektors Theodor Pieper zu Weisenau bei Mainz geboren. Nachdem ich am 7. März 1931 an der Hittorf-Oberrealschule zu Recklinghausen i. Westf. die Reifeprüfung abgelegt hatte, widmete ich mich vom W. S. 1931/32 an dem zahnmedizinischen Studium. Nach 3 vorklinischen Semestern in Wien und Würzburg ging ich nach einem weiteren Semester als Kliniker in Würzburg nach Münster, wo ich am 23. Mai 1935 das zahnmedizinische Staatsexamen mit dem Prädikat „sehr gut" bestand. *Carl Friedrich Pieper.*